

Синтез эхинаминов А и В – пигментов морского ежа *Scaphechinus mirabilis*

Полоник Н.С.

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Проспект 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток. Факс: 7 (4232) 31–40–50; тел: 7 (4232) 31-99-32; E-mail: nikpol@piboc.dvo.ru

Разработан новый способ синтеза эхинаминов А и В – природных пигментов морского ежа *Scaphechinus mirabilis*. Синтез эхинамина А основан на региоселективном нуклеофильном замещении атомов хлора в 7-гидрокси-2,3-дихлор-6-этилнафтазарине с последующим восстановлением образующегося 2,7-дигидрокси-3-нитро-6-этилнафтазарина дитионитом натрия. Для синтеза эхинамина В был предложен подход, основанный на кислотном гидролизе 6-алкил-7-алкокси-2-гидрокси-3-нитронафтазаринов, разделении образующихся нитронафтазаринов и их восстановлении в эхинамины А и В. Также были синтезированы неприродные 2-гидрокси-3-нитронафтазарин и 3-амино-2-гидрокси-6-алкил-7-алкокси-4-нафтахиноны

Введение

Нафтазарин (5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинон) и его производные широко распространены в природе; представители этого класса соединений были выделены из бактерий, грибов, растений и животных¹. К таким соединениям относится эхинохром **1** – один из пигментов морского ежа

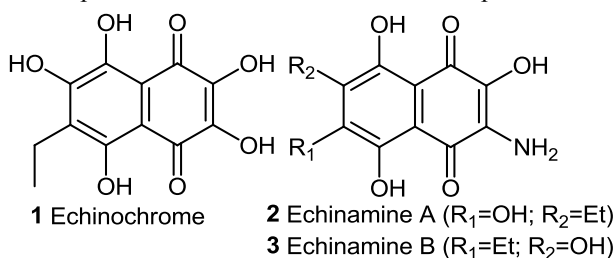


Рис. 1. Пигменты морского ежа *Scaphechinus mirabilis*

Scaphechinus mirabilis, который стал основой для создания лекарственного препарата Гистохром², применяемого для лечения социально значимых заболеваний: ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда³, травм и ожогов глаз и геморрагического инсульта⁴.

Высокая биологическая активность эхинохрома связана с его антиоксидантными свойствами. Недавно из морского ежа *Scaphechinus mirabilis* были выделены полигидрокси-нафтохиноны содержащие β -аминогруппу – эхинамины А **2** и В **3**⁵ (Рис 1). Структуры эхинаминов были установлены путем многостадийного встречного синтеза⁶, кроме того было установлено, что эхинамины обладают антиоксидантной активностью, сопоставимой с эхинохромом⁷. К сожалению, малая доступность эхинаминов, связанная с их низким содержанием в морских ежах, мешает более детальному изучению биологической активности этих соединений.

В данной работе рассматриваются новые способы синтеза природных эхинаминов А и В, а также их неприродных аналогов на основе реакции нитрита натрия с 6,7-замещенных-2,3-дихлорнафтазаринами.

Результаты и обсуждение

Несмотря на то, что реакция 2,3-дихлорнафтохинонов с нитритом натрия была описана еще в конце XIX века⁸, а эффективный метод синтеза 2,3-дихлорнафтазаринов был разработан в 1928 году⁹, до сих пор в литературе не сообщалось о взаимодействии 2,3-дихлорнафтазаринов с нитритом натрия.

Таблица 1. Взаимодействие 6,7-замещенных 2,3-дихлорнафтазаринов с нитритом натрия

Дихлорхинон №	R_1	R_2	Нитрохинон №	Выход %
4	H	H	18	79
5	Me	H	19 ^a	83
6	Et	H	20 ^a	85
7	t-Bu	H	21 ^a	85
8	Me	Me	22	78
9	Cl	H	23 ^a	84
10	Cl	Cl	24	82
11	Me	Cl	25 ^a	84
12	Et	Cl	26 ^a	75
13	OMe	H	27 ^a	83
14	Me	OMe	28 ^a	78
15	Et	OMe	29 ^a	85
16	Me	OEt	30 ^a	81
17	Et	OEt	31 ^a	65

^a Смеси 6(7) региоизомеров^a

Мы обнаружили, что 2,3-дихлорнафтазарин взаимодействовал с нитритом натрия в системе растворителей ацетон-метанол (1:1 V/V), образуя 2-гидрокси-3-нитронафтазарин с выходами 66-90%. Также из реакционной смеси были выделены 2-гидрокси-3-хлорнафтазарин с выходами 2-6%. Образование побочных продуктов связано с амбидентностью нитрит-иона в реакциях нуклеофильного замещения, т.е. с его способностью

взаимодействовать с субстратом как О-нуклеофил, и как N-нуклеофил¹⁰.

Дихлорнафтазарины **5-9** и **11-17** реагируют с нитритом натрия не региоспецифично (Табл. № 1), образуя неразделимые смеси региоизомеров с соотношением изомеров ~3:2 (по данным ЯМР Н¹). Полученные соединения представляют собой ярко-красные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде и полярных органических растворителях (ацетон, метанол, этанол, диметилформамид).

Дихлорнафтазарины со свободной β-гидроксильной группой не реагировали с нитритом натрия в подобранной нами ранее системе растворителей даже при длительном кипячении. По нашему мнению это связано с тем, что β-гидроксильная группа в этих соединениях вступала в реакцию обмена с нитритом натрия с образованием натриевой соли хинона, при этом фенокси-группа как сильный донор электронной плотности существенно замедляла реакцию замещения галогенов.

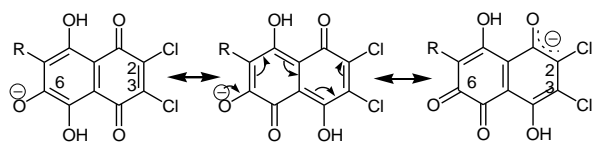


Схема 1. Влияние β-гидроксильной группы на направление реакции нуклеофильного замещения β-Феноксигруппа дихлорнафтазарин **32**, **33** не только существенно замедляла реакцию замещения галогенов, но и значительно дезактивировала атом хлора в положении 2 к замещению на нитрогруппу, вследствие этого из продуктов реакции выделили только один изомерный нитрохинон (Схема № 1), а

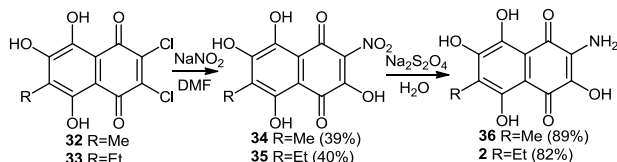


Схема 2. Синтез эхинамина А и его метильного гомолога

не смесь изомеров, как было отмечено нами ранее для несимметричных дихлорнафтазарин **19-21**, **23**, **25-31** (Табл. № 1).

Применение в качестве растворителя

диметилформамида в конечном итоге позволило синтезировать гидроксинитронафтазарин **34** и **35** с выходами 39 и 40% соответственно. Для однозначного подтверждения структуры нитрохинона **35** мы провели его восстановление дитионитом натрия в эхинамин А **2**¹¹. Таким же способом был получен и метильный гомолог эхинамина А **36** (Схема № 2).

Успешно осуществив синтез эхинамина А с помощью региоселективной реакции дихлорнафтазарина **33** с нитритом натрия, мы провели кислотный гидролиз 6-алкил-7-алкокси-2-гидрокси-3-нитронафтазарин **28-31** под действием HBr-HCOOH (Табл. № 2). Образовавшиеся в результате изомерные 2-гидрокси-3-нитронафтазарин **34**, **37** и **35**, **38** сильно отличались друг от друга по R_f и были успешно разделены методом препаративной тонкослойной хроматографии.

Заключительным этапом наших исследований стало восстановление полученных нитрохинонов **18-31** и **37**, **38**. Как было показано ранее, восстановление нитрогруппы дитионитом натрия в гидроксинитронафтазарин **34** и **35** протекает с хорошими выходами, приводя к эхинамину А и его метильному гомологу. При восстановлении дитионитом натрия гидроксинитронафтазарин **18-31**, мы наблюдали образование вязких осадков аминихинонов, фильтрование которых было сопряжено с большими трудозатратами. Кроме того, в ряде случаев образовывались побочные продукты восстановления хиноидной C=C связи. Для более эффективного восстановления нитрогруппы нами был использован другой более мягкий восстановитель-сульфид натрия. Его применение позволило как повысить выходы аминафтазарин, так и избежать образования побочных продуктов восстановления (Таблица № 3).

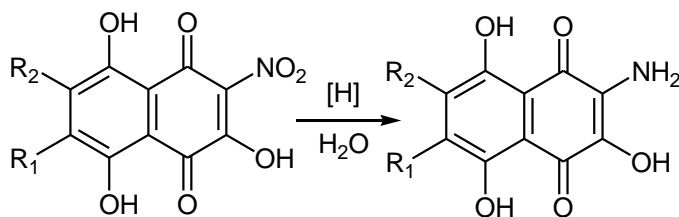
В ходе проделанной работы был разработан новый короткий способ синтеза эхинамина А, основанный на региоселективной реакции 7-гидрокси-2,3-дихлор-6-этилнафтазарина с нитритом натрия. Также было исследовано взаимодействие 2,3-дихлорнафтазарин с нитритом натрия, синтезированы 2-гидрокси-3-нитронафтазарин и изучено их восстановление в 3-амино-2-гидроксинафтазарин.

Таблица 2. Кислотный гидролиз 6-алкил-7-алкокси-2-гидрокси-3-нитронафтазарин **28-31**.

Нитрохинон №	R ₁	R ₂	Нитрохинон №	R	Выход %	Нитрохинон №	Выход %
28^a	Me	Me	34	Me	19	37	24
29^a	Et	Me	35	Et	20	38	26
30^a	Me	Et	34	Me	18	37	22
31^a	Et	Et	35	Et	23	38	25

^a Смесь 6 (7) региоизомеров

Таблица 3. Синтез 3-амино-2-гидроксиафтазинов



Нитрохинон №	R ₁	R ₂	Аминохинон №	Восстановление Na ₂ S Выход %	Восстановление Na ₂ S ₂ O ₄ Выход %
18	H	H	39	91	78
19 ^a	Me	H	40 ^a	88	79
20 ^a	Et	H	41 ^a	83	76
21 ^a	t-Bu	H	42 ^a	85	83
22	Me	Me	43	82	86
23 ^a	Cl	H	44 ^a	75	63
24	Cl	Cl	45	84	53
25 ^a	Me	Cl	46 ^a	86	74
26 ^a	Et	Cl	47 ^a	84	78
27 ^a	OMe	H	48 ^a	83	81
28 ^a	Me	OMe	49 ^a	89	73
29 ^a	Et	OMe	50 ^a	90	80
30 ^a	Me	OEt	51 ^a	83	82
31 ^a	Et	OEt	52 ^a	82	75
37	OH	Me	53	N/A	65
38	OH	Et	3	N/A	70

^a Смеси 6(7) региоизомеров

Экспериментальная часть

Строение всех полученных соединений подтверждено методами ИК- и ¹H ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.

Синтез 2-гидрокси-3-нитронафтазинов 18-31.

К раствору 1,0 ммоль дихлорнафтазина в смеси ацетон (10 мл)-метанол (10 мл) прибавили 0,442 г (6,4 ммоль) тонкоизмельченного NaNO₂ и кипятили реакционную смесь при перемешивании в течение ~1,5 часов. По завершению реакции к реакционной смеси прибавили конц. HCl (5 мл) для перевода соли гидроксинитронафтохинона в кислую форму, перенесли осадок смеси целевого нитрохинона и неорганических солей (NaCl) на стеклянный фильтр и смыли нитрохинон с NaCl ацетоном (10 мл) до обесцвечивания осадка. Фильтрат упарили досуха на ротормном испарителе с добавлением толуола. Полученное красное масло растворили в ацетоне и нанесли на хроматографическую пластину для ПТСХ. Хроматографические пластины проявляли трехкратно в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V) до полного разделения полос. Собирали силикагель, содержащий нитронафтазарин (R_f=0,4-0,5), смыли нитронафтазарин ацетоном, фильтрат упарили досуха с добавлением толуола, сушили в вакуум-эксикаторе до постоянного веса. Выходы приведены в таблице № 1.

Синтез 2-гидрокси-3-нитронафтазинов 34 и 35

К раствору 3,0 ммоль дихлорнафтазина в 15 мл ДМФА прибавили 1,242 г (18,0 ммоль) тонкоизмельченного NaNO₂ и перемешивали

реакционную смесь 4 часа при комн. температуре. По завершению реакции реакционную смесь упарили досуха на ротормном испарителе. К полученному остатку прибавили 5 мл конц. HCl для перевода соли гидроксинитронафтазарина в кислую форму, перенесли ярко-красный осадок смеси нитрохинона и хлорида натрия на стеклянный фильтр и смыли нитрохинон с NaCl добавлением ацетона до обесцвечивания NaCl. Фильтрат упарили на ротормном испарителе до образования темно-красного масла. Полученное красное масло растворили в ацетоне и нанесли на хроматографическую пластину для ПТСХ. Хроматографические пластины проявляли трехкратно в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V) до полного отделения полосы с R_f = 0,3-0,4, смыли нитронафтазарин ацетоном, фильтрат упарили досуха с добавлением толуола, сушили в вакуум-эксикаторе до постоянного веса. Выходы приведе на схеме № 2.

Кислотный гидролиз 6-алкил-7-алкокси-2-гидрокси-3-нитронафтазинов 28-31.

Раствор 2-гидрокси-3-нитронафтазарина (0,3 ммоль) в смеси 4 мл HCOOH (98%) и 1 мл HBr (45%) кипятили с обратным холодильником при перемешивании в течение 6 часов. Реакционную смесь охладили, упарили досуха на ротормном испарителе с добавлением толуола. Полученный порошок растворили в ацетоне и нанесли на хроматографическую пластину для ПТСХ. Хроматографические пластины проявляли шестикратно в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V) до полного разделения полос. Собирали две фракции с с R_f = 0,3-0,4 и с R_f = 0,5-0,6, смыли

нитронафтазарина ацетоном, фильтраты упарили досуха с добавлением толуола, сушили в вакуум-эксикаторе до постоянного веса. Выходы приведены в таблице № 2.

Восстановление 2-гидрокси-3-нитронафтазарина **18-38** дитионитом натрия в водном растворе.

К раствору 2-гидрокси-3-нитронафтазарина (4,65 ммоль) в 75 мл воды порциями за 15 мин прибавляли раствор 3,70 г (21,62 ммоль) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ в 20 мл воды при перемешивании. После прибавления $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ перемешивание продолжали в течение ~1,5 час, контролируя течение реакции ТСХ в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V) с отбором проб. По окончании реакции выпавший темно-коричневый осадок отделяли на фильтре, промывали холодной водой (~100 мл) до обесцвечивания промывных вод и сушили в вакуум-эксикаторе. Аналитические образцы 3-амино-2-гидрокси-нафтазарина выделяли ПТСХ в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V). Хроматографические пластины проявляли шестикратно до полного отделения полосы с $R_f = 0,4-0,5$, аминафтазарин смывали с силикагеля ацетоном, растворитель упаривали в вакууме с добавлением толуола досуха и сушили в вакуум-эксикаторе до постоянного веса. Выходы приведены в таблице № 3.

Восстановление 2-гидрокси-3-нитро-6,7-алкоксинафтазарина **18-31** в 3-амино-2-гидрокси-нафтазарина **39-52** под действием Na_2S

К раствору 2-гидрокси-3-нитронафтазарина (1,0 ммоль) в 100 мл воды порциями за 5-7 мин прибавляли раствор 780 мг (10,0 ммоль) Na_2S в 15 мл воды при перемешивании. Реакционную смесь перемешивали ~1 час, контролируя ход реакции ТСХ с отбором проб. По завершению реакции реакционную смесь подкисляли 2 Н HCl до $\text{pH} = 7,5-8,0$, отфильтровывали выпавшие коричневые хлопья, промывали их на фильтре водой (3x35 мл) и высушивали в вакуум-эксикаторе. Аналитические образцы 3-амино-2-гидрокси-нафтазарина выделяли ПТСХ в системе гексан-бензол-ацетон (2/1/1 V/V).

Хроматографические пластины проявляли шестикратно до полного отделения полосы с $R_f = 0,4-0,5$, амин смывали с силикагеля ацетоном, растворитель упаривали в вакууме с добавлением толуола и сушили полученный коричневый порошок в вакуум-эксикаторе до постоянного веса. Выходы приведены в таблице № 3.

Библиографический список

- 1 Thomson R. H. *Naturally occurring quinones*. London-New York: Chapman and Hall, **1987**. 3rd ed. 732 p.; London-New York: Blackie Academic and Professional, **1997**. 4rd ed. 746 p.
- 2 Мищенко Н.П., Федореев С.А., Багирова В.Л. // Хим.-фарм. журн. **2003**. Т. 37. № 1. С. 48.
- 3 Афанасьев С.А., Ласукова Т.В., Чернявский А.М. АТФ- // Бюл. эксп. биологии и медицины. **1997**. Т. 124. № 12. С. 669-671.
- 4 Стоник В.А., Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Гусева М.Р., Щукин И.А., Агафонова И.Г., Мищенко Н.П., Федореев С.А. // Докл. АН. **2005**, Т. 405. № 5. С. 696-698.
- 5 Mischenko N. P., Fedoreyev S. A., Pokhilo N. D., Anufriev V. Ph., Denisenko V. A., Glazunov V. P. // J. Nat. Prod. **2005**. Vol. 68. P. 1390-1393.
- 6 Pokhilo N. D., Yakubovskaya A. Ya., Denisenko V. A., Anufriev V. Ph. // Tetrahedron Lett. **2006**. Vol. 47. P.1385-1387.
- 7 Pokhilo N. D., Shuvalova M. I., Lebedko M. V., Sopelnyak G. I., Yakubovskaya A. Ya., Mischenko N. P., Fedoreyev S. A., Anufriev V. Ph. // J. Nat. Prod. **2006**. Vol. 69. P. 1125-1129.
- 8 Ulrich H., Richter R. *Die para-Chinone der Benzol- und Naphthalin-Reihe*. // *Methoden der Organischen Chemie*. Eds. Houben I., Weil T. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, **1977**. Bd. 7/3a. S. 533.
- 9 Zahn K., Ochwat P. // Liebigs Ann. Chem. **1928**. Bd. 462. No 1. S. 72-97.
- 10 Полоник С.Г., Полоник Н.С., Денисенко В.А., Моисеенко О.П., Ануфриев В.Ф. // Журн. орг. химии. **2009**. Т. 45. № 9. С. 1423-1424.
- 11 Polonik N. S., Anufriev V. P., Polonik S. G. // Natural Product Communications. **2011**. Vol. 6. No.2. P. 217-222.